Lane Medical Library

BIOLOGISCHE STUDIEN ÜBER ACIDOBAKTERIEN AUS INITIALKARIES

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG
DER ZAHNÄRZTLICHEN DOKTORWÜRDE
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER HAMBURGISCHEN UNIVERSITÄT

VORGELEGT VON
FRITZ BORGS
AUS HAMBURG

Referent:
Prof. Dr. Fischer.

Die Aetiologie der Zahnkaries hat, wenn wir von älteren Anschauungen absehen, mannigfache Wandlungen in der Beurteilung erfahren, seit Miller die Karies als einen chemisch parasitären Prozeß definierte. Die Millersche Auffassung ist zu bekannt, als daß sie an dieser Stelle einer besonderen Beleuchtung bedürfte. Von größerem Interesse sind aber diejenigen Autoren, die nach der Jahrhundertwende die rein parasitäre Kariestheorie verfechten und im Gegensatz zu älteren Ansichten auch die Gärung von Kohlehydraten und die Fäulnis eiweißhaltiger Substanzen in der Mundhöhle auf die Tätigkeit von Bakterien zurückführen.

Die heute noch gültige Auffassung Millers, daß die Entkalkung der harten Zahnsubstanzen durch säurebildende Bakterien und die Zerstörung der organischen Bestandteile durch proteolytisch wirkende Organismen bewerkstelligt werde, wurde von Goadby, der 1900 sehr eingehende Untersuchungen an 20 Fällen anstellte, bestätigt. Goadby nennt neben Staphylokokken und Sarzinen, die er im kariösen Dentin fand, einen Strept. brevis und einen Bac. necrodentalis, welch letzteren er die führende Rolle bei der Säurebildung zuschreibt. Als Dentinverflüssiger bezeichnet Goadby u. a. Bac. subtilis, Bac. Mesentericus, Bact. proteus und Bac. furvus.

Die 1900 veröffentlichte Arbeit von Goadby fand 1911 ihre kritische Würdigung durch Kantorowicz, der Untersuchungen über die Bakterienflora der tieferen Kariesschichten anstellte und die von ihm angetroffenen Mikroorganismen in folgende 3 Gruppen einteilte:

1. eine nicht verflüssigende Form von Staphylokokken,
2. zwei Streptokokkenarten (a und b),
3. drei Stäbchenarten, deren eine er als identisch mit dem Bac. necrodentalis (Goadby) bezeichnet; außerdem wurden neben den von Goadby schon erwähnten Dentinverflüssigern Hefen und Sarzinen gefunden.

In dem zahnärztlichen Schrifttum der letzten Jahre, soweit es sich mit der Bakteriologie der Mundhöhle befaßt, herrscht zum Teil eine auffallende Unklarheit, die besonders dadurch wesentlich vermehrt wird, daß die jeweiligen Beobachter immer neue Namen prägen, so daß selbst bei sehr aufmerksamer Betrachtung der Untersuchungsergebnisse angesichts der vielen Widersprüche kein klares Bild gewonnen werden kann. Hilgers und Sperling bezeichnen den Strept. lacticus (Kruse), bezugnehmend auf die Arbeiten von Kruse und Seitz, als den alleinigen Karieserreger. Sperling betrachtet darüber hinaus den Bac. necrodentalis Goadbys als eine Stäbchenvariante des Strept. lacticus Kruse.

Auch in bezug auf die Bedeutung der einzelnen Mikroorganismen für die verschiedenen Phasen der Entstehung der Karies finden wir weitgehende Uneinigkeit unter den zahlreichen Autoren, die sich für diese Materie interessierten. Die einen (Goadby, Kantorowicz, Hartzell und Henrici, Baumgartner) schreiben den Streptokokken die Hauptrolle zu, während andere, besonders in letzter Zeit (Kligler, Hadley, Howe und Hatch, Bunting u. a.), die säurebildenden Stäbchen in den Vordergrund stellen. Uebereinstimmend aber finden wir bei all diesen Untersuchern die Feststellung, daß die „Kariesstäbchen" sich durch sehr erhebliche Säurebildung vor allen anderen in der Mundhöhle vorkommenden Formen auszeichnen.

Von den deutschen Autoren, die in den letzten fünf Jahren über das Problem der Kariesätiologie gearbeitet haben, sind in allererster Linie Heim und sein Mitarbeiter Schlirf zu nennen, die es unternommen haben, aus der verwirrenden Mannigfaltigkeit der Anschauungen auf Grund eigener Untersuchungen ein übersichtliches, einheitliches Bild herauszuarbeiten. Es sei hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt, daß Heim und Schlirf ihrerseits auch wieder einen neuen Namen schufen. Sie faßten die Kariesstäbchen und ihre nächsten Verwandten zusammen unter dem Namen Azidobakterien. Lehmann

30701

und Neumann sprechen der 1920 von Löwi geprägten Bezeichnung „Plokamobakterien" die Priorität zu und bezeichnen die Benennung „Azidobakterien" als gegen die Regeln der Nomenklatur verstoßend, während sie sich im übrigen auf die Arbeiten von Heim und Schlirf stützen.

Heim kommt in seiner Arbeit „Bakterien und Zahnkaries" bei kritischer Betrachtung einer gleichnamigen Veröffentlichung Hadleys zu dem Schluß, „daß man zwar den Bakterien der Azidophilusgruppe eine wichtige Rolle bei der Entkalkung des Dentins zuschreiben muß, daß man aber die Streptokokken dabei nicht übersehen und ausschalten darf". In diesem Zusammenhang verdient die Ansichts Hadleys erwähnt zu werden, wonach die Symbiose verschiedenartiger Organismen vielleicht mit für die auffallend verschiedene Progredienz der Karies bei verschiedenen Patienten verantwortlich sei. Es versteht sich von selbst, daß diese Möglichkeit nur eine von vielen ist und vielleicht gegenüber anderen Faktoren, wie Zusammensetzung und Menge des Speichels, Beanspruchung und Pflege der Zähne u. a. m. nur eine untergeordnete Rolle spielt. Wir wissen aus den Untersuchungen von Bunting und Amsler, daß „Kariesstäbchen" unter Außerachtlassung solcher symbiotischer Möglichkeiten sehr wohl imstande sind, selbst in vitro, also unter Lebensbedingungen, die von denen der Mundhöhle doch weit entfernt sind, Dentin in relativ kurzer Zeit zu entkalken. Ueber den bereits erwähnten Standpunkt Heims hinaus geht Schlirf noch etwas weiter, indem er neben den Streptokokken und Azidobakterien als den wichtigsten Zerstörern harter Zahnsubstanz auch die Fusobakterien erwähnt. Er schließt sich damit Hadley an, der die Ansicht vertritt, daß die Fusobakterien wegen ihres Säurebildungsvermögens und wegen ihres gehäuften Vorkommens an den Prädilektionsstellen der Karies an dem Beginn dieser Erkrankung mitschuldig sind. Was die Beteiligung der Staphylokokken bei der tiefen Karies anbetrifft, so können wir wohl mit Heim annehmen, daß diese nicht als Staphylokokken im Sinne von Staph. pyogenes aureus, sondern als Mikrokken schlechthin aufzufassen sind, die lediglich wegen der einigen Arten eigentümlichen proteolytischen Fähigkeiten bei der Dentinverflüssigung mitwirken. Anders mögen die Verhältnisse liegen, wenn bei bereits fortgeschrittener Dentinverflüssigung Staphylokokken zur Pulpa gelangen. Eine Verfolgung solcher Gedankengänge würde aber weit über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehen.

In den Arbeiten Buntings und seiner Mitarbeiter, die in neuester Zeit im „Dental Cosmos" und im „Journal of the American Dental Association" veröffentlicht wurden, erscheint der Bac. acidophilus als der wesentlichste, gewissermaßen spezifische Karieserreger. In demselben Licht erscheint das „Plocamobact. acidophilum necrodentale" Amslers in dessen „Beitrag zur Bakteriologie der Zahnkaries". Die Arbeiten von Heim, Schlirf, Bunting und Amsler sollen bei der Besprechung der eigenen Untersuchungen in erster Linie vergleichend herangezogen werden.

Zuvor jedoch bedarf es einer kurzen Erwähnung derjenigen Mikroorganismen, die Heim unter dem Namen Azidobakterien zusammenfaßte, um ihr hervorstechendstes Merkmal, die Säurebildung, zum Ausdruck zu bringen. Wir folgen hierbei Schlirf, der diese Gruppe in seiner Arbeit „Zur Kenntnis der ‚azidophilen' Bakterien" beschreibt, sowie seinen „Bakteriologischen Untersuchungen über die Zahnkaries". Moro stellte 1900 im Säuglingsstuhl grampositive Stäbchen fest, die er wegen ihrer biologischen Eigenart Bac. acidophilus nannte. Eine Reihe ausländischer Autoren, wie Kligler, Howe und Hatch, James Mc. Intosh und Lazarus-Barlow, Rodriguez, Hadley und Bunting, geben an, daß die von ihnen aus Karies gewonnenen Stäbchen dem Bac. acidophilus Moro entsprechen. Man kann demnach unter Außerachtlassung einiger Abarten innerhalb der normalen Variationsbreite und ohne der von Heim bekämpften Gleichmacherei zu verfallen, unter einem mehr historischen als bakteriologischen Gesichtswinkel folgende Organismen als synonym bezeichnen: Bac. necrodentalis (Goadby), Bac. acidophilus (Moro, Hadley, Howe und Hatch, James Mc. Intosh und Lazarus-Barlow, Bunting), Lactobacillus odentolyticus (Rodriguez), Bac. asidophilus odontolyticus (Kligler) und Plocamobact. acidophilum necrodentale (Amsler). Dem Bac. necrodentalis (Goadby) entspricht auch das von Heim als Acidobacterium lactis beschriebene Stäbchen. Als ihm nahestehend bezeichnet Schlirf das Acidobacterium aerogene, das sich vom Acb. lactis durch Gasbildungsvermögen und fehlende Veränderung der Lackmusmilch unterscheidet. Eine weitere Form, ursprünglich im Säuglingsstuhl vorkommend, die Schlirf auch in Karies ge-

funden zu haben glaubt, nennt er Acb. Moroi, den Döderleinschen Scheidenbazillus bezeichnet er als Acb. Döderleinii und den Erreger der Yoghurtmilch als Acb. bulgaricum.

Als wichtigste Erkennungsmerkmale gibt Schlirf an:

a) Form der Kolonien auf Agar;
b) Verhalten in Lackmusmilch;
c) Wachstum auf Gelatine, gegebenenfalls Form der Kolonien;
d) fehlende oder vorhandene Gasbildung auf Zuckernährböden.

Die eigenen Untersuchungen sollen der Nachprüfung der von in- und ausländischen Autoren, insbesondere Bunting-Palmerlee, Amsler, Heim und Schlirf veröffentlichten Ergebnisse dienen, soweit sie sich auf das Säurebildungsvermögen von Azidobakterien aus Initialkaries erstrecken. Darüber hinaus mußte die Frage interessieren, welchen Einfluß verschiedene Traubenzuckerkonzentrationen auf den Grad und das Tempo der Säurebildung ausüben. Weiterhin wurde zur Prüfung des biologischen Verhaltens der benutzten eigenen Stämme die für die Typhus-Coli-Diagnostik übliche sog. „bunte Reihe" herangezogen, ohne daß damit irgendeine Beziehung zwischen dem zu untersuchenden Material und der Typhus-Coli-Gruppe auch nur angedeutet werden soll. Die Morphologie der „Kariesstäbchen" sowie ihr Verhalten auf den verschiedenen von Bunting verwandten Nährböden wurde nicht berücksichtigt, da über dieses Gebiet von anderer Seite demnächst eine Arbeit erscheinen soll.

Eigene Untersuchungen.

I. Materialgewinnung.

Von 22 Patienten wurde unter sterilen Kautelen nach Entfernung der obersten Schichten mit Exkavatoren Bohrstaub aus beginnender Karies entnommen. Der in sterilen Petrischalen gesammelte Bohrstaub wurde gleich nach der Entnahme in 1 %ige Traubenzuckerbouillon pH 5,2 gebracht und bei 37° im Brutschrank 48 Stunden bebrütet. In dem nach 48 Stunden angefertigten Färbepräparat fanden sich regelmäßig Stäbchen, meistens nahezu in Reinkultur, daneben Kokken, Hefen und vereinzelt Sarzinen. Da es uns lediglich auf die Gewinnung von Stäbchenkulturen ankam, wurde den Nebenbefunden keine besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Aus den 48stündigen Kulturen wurde eine Oese entnommen und auf Normalagar breit ausgespatelt. Schon nach 24 Stunden war auf dem Agar ein ganz zartes Wachstum regelmäßig wahrnehmbar. Die 48stündigen Agarkulturen wurden einer genauen mikroskopischen Untersuchung unterzogen. Bei einiger Uebung ist es nicht schwer, die typischen, später noch genauer zu beschreibenden Stäbchenkolonien zu erkennen. Hiervon wurden nun einzelne Kolonien in Normalbouillon übergeimpft und durch wiederholte Agarpassage unter ständiger mikroskopischer Kontrolle nach kurzer Zeit absolut einwandfreie Reinkulturen grampositiver Stäbchen gewonnen.

II. Prüfung des biologischen Verhaltens.

Morphologie. Die sehr kleinen, schlanken Stäbchen zeigen eine auffallende Lagerung. Im Ausstrichpräparat von 24stündiger Agarkultur ist die palisadenförmige Anordnung vorherrschend. Oft sieht man Scheinfäden von dicht hintereinanderliegenden Stäbchen, dazwischen vereinzelt hufeisenförmig gebogene. Im Bouillonausstrichpräparat überwiegt die kettenförmige Anordnung. Mit zunehmendem Alter der Kulturen tritt eine deutliche Verkürzung der Stäbchen ein. Außer diesen morphologischen Eigentümlichkeiten wurden Besonderheiten, wie Periodizität einzelner

Formen wohl schon mangels systematischer Untersuchungen gerade dieses Sondergebietes nicht festgestellt. Immerhin möge erwähnt werden, daß im Verlaufe der mehr als zehnmonatigen Beobachtung eine „Verwandlung" von Stäbchen in Kokken (s. „Stäbchenvariante" Sperling) niemals gefunden wurde. Wohl aber kann man von einer „Streptokokkenform" bei alten Kulturen sprechen. Die sehr kurzen Stäbchen und nicht zuletzt die wahllos mehr oder weniger deutlich färbbaren Volutinkörperchen können wohl einen ungeübten Beobachter glauben machen, daß es sich um Kokken handele. Die erwähnten Volutinkörperchen, meist zwei in einem Stäbchen, sind färberisch gut darstellbar und lassen sich auch im hängenden Tropfen beobachten. Die vorherrschende Diplobazillenform, ebenfalls im hängenden Tropfen gut sichtbar, kann mit Rücksicht auf die Volutinkörperchen wohl einmal den Eindruck viergliedriger Kokkenketten erwecken. Dieser Eindruck kann im Färbepräparat bei etwas reichlicher Fixierung unter Umständen noch verstärkt werden.

Wachstum. In Bouillon zeigt sich nach 24 Stunden geringer Bodensatz, der sich bei kräftigem Schütteln im Röhrchen wie ein Schleier erhebt. Nach 48 Stunden ist die Bouillon diffus getrübt, wird aber später, besonders bei Traubenzuckerzusatz, wieder klar, indem sich ein dicker Satz am Boden des Röhrchens ansammelt und an der Wandung oft flockig niedergeschlagen wird.

Auf Agar findet man nach 24 Stunden ganz zarte, im durchfallenden Licht farblose, feingranulierte Kolonien, deren fein gezähnelter Rand etwas heller erscheint als der übrige Teil. Die Kolonien fallen auf durch einen charakteristischen silbrigen Schimmer. Auf Gelatine unter 22° dauert es vier bis fünf Tage und länger, bis Kolonien sichtbar werden. Die Form

Tabelle I.

Art der Kultur	Wachstum	Drigalski	Endo	Beweglichkeit	Gasbildung aus Traubenzucker
Bact. coli	üppig	rot	rot	+	+ n. 12 Std.
Bac. acidophilus (Moro)	mäßig	gehemmt	„	—	—
Acb. lactis Nr. 2	zart	„	„	—	—
„ „ „ 5	„	„	„	—	—
„ „ „ 10	„	„	„	—	—
„ „ „ 12	„	„	„	—	—
„ „ „ 15	„	„	„	—	—
„ „ „ 19	„	„	„	—	—

unterscheidet sich von derjenigen auf Agar nur dadurch, daß die Zähnelung der Randzone ausgeprägter ist. Deutliche Ausläufer konnten nur vereinzelt beobachtet werden.

Lackmusmilch (nach Heim). In 8 %iger Lackmusmilch wurden neben den selbstgezüchteten Stämmen Nr. 1—22 zur Kontrolle je ein Stamm Acb. bulgaricum, Acb. Moroi und Strept. lactis mitbeobachtet. Es zeigte sich folgendes:

Act. bulbaricum und Act. Moroi: Nach 24 Stunden ganzes Röhrchen bläulich-rot. Im Laufe der nächsten Tage langsame Aufhellung von unten nach oben fortschreitend gelb-weiß. Dann Rötung von oben nach unten. Koagulation nach 24 Stunden.

Eigene Stämme: Nr. 1—22: Innerhalb 17 Stunden keine Veränderung. Danach von unten beginnende Aufhellung, bis das ganze Röhrchen gelblich-weiß wurde. Koagulation nach 2—4 Tagen. Gleichzeitig Bildung einer schmalen roten Zone im oberen Teile der Milch, Rötung langsam nach unten fortschreitend.

Strept. lactis: Innerhalb von 17 Stunden ganzes Röhrchen weiß bis auf schmale Zone von oben beginnender Rötung. Milch koaguliert innerhalb 17 Stunden.

Von den 22 Stämmen wurden nun sechs ausgewählt, die in ihrem Verhalten in Lackmusmilch weitgehende Uebereinstimmung zeigten und auch sonst den von Heim und Schlirf gestellten Anforderungen genügten. Diese sechs ausgewählten Stämme (Nr. 2, 5, 10, 12, 15, 19), die mit Bestimmtheit als Acb. lactis anzusprechen sind, wurden einer genaueren Prüfung unterzogen, deren Ergebnisse aus nachstehender Tabelle 1 ersichtlich sind.

Tabelle I (Fortsetzung).

Säurebildung aus Milchzucker	Farbänderung in Lackmusmolke	Milch-koagulation	Neutralrot-Reduktion	Indol-bildung
+	rot n. 12 Std.	+ n. 36 Std.	reduz. gelb	+
+	rot n. 36 Std.	+ n. 2 Tg.	—	—
+	rot n. 48 Std.	+ n. 3 Tg.	—	—
+	rot n. 48 Std.	+ n. 2 Tg.	—	—
+	rot n. 48 Std.	+ n. 2 Tg.	—	—
+	rot n. 48 Std.	+ n. 3 Tg.	—	—
+	rot n. 48 Std.	+ n. 2 Tg.	—	—
+	rot n. 48 Std.	+ n. 2 Tg.	—	—

Den lediglich zu Vergleichszwecken mitbeobachteten Coli-Stamm verdanke ich dem Hygienischen Staatsinstitut Hamburg; den aus Brustmilchstuhl gewonnenen Stamm Bac. acidophulus Moro bezog ich aus der Preußischen Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel.

Färbbarkeit: Alle Stämme färbten sich auch nach zehnmonatiger Züchtung gut nach Gram. Die von Bunting angegebene Abnahme der Gramfärbbarkeit bei alten Kulturen wurde nicht beobachtet.

Anärobe Züchtung: Gelang nicht, so daß es schwer ist, eine Erklärung zu finden für die Angaben Amslers, daß seine Stäbchen anärob besser gewachsen seien als ärob. Wenn Amsler dann am Schlusse seiner Arbeit sagt, daß seine Ergebnisse sich mit denen von Heim und Schlirf decken, so muß darauf hingewiesen werden, daß Heim sowohl wie Schlirf angeben, daß Acb. lactis aerob besser als anärob wachse. Uns ist die Züchtung unter streng anäroben Bedingungen trotz mehrfacher Versuche nicht gelungen.

Säurebildung: Dieser wesentlichsten und praktisch bedeutsamsten Lebensäußerung des Acb. lactis wurde besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Es galt zu untersuchen, ob verschiedene Traubenzuckerkonzentrationen irgendeinen Einfluß auf Lebensdauer und Säurebildungsvermögen der Stäbchen ausüben. Zunächst lag uns daran, einmal an einer Auswahl ganz einwandfreier Stämme die Angaben der ausländischen Literatur über das Säurebildungsvermögen von Kariesstäbchen nachzuprüfen. Wir benutzten zu diesem Zweck Bouillon mit Traubenzuckerzusatz verschiedener Konzentration, um eventuell einen Anhaltspunkt zu finden für die den Kariesstäbchen am meisten zusagende Traubenzuckerkonzentration. Die Tatsache, daß die Kohlenhydrate des Nährbodens durch die Mikroorganismen in Säure umgesetzt werden, legte die Vermutung nahe, daß bestimmte Mengen von Kohlehydraten in einem bestimmten Verhältnis zu der übrigen Kulturflüssigkeit evtl. eine maximale Säurebildung bedingen, wenn man nicht von vornherein annehmen wollte, daß eine bestimmte Wasserstoffionen-Konzentration das Wachstum dieser oder jener Bakterienart überhaupt verhindert, ganz abgesehen von der sonstigen Beschaffenheit des Nährbodens oder von anderen Faktoren, die mit den Lebensäußerungen von Mikroorganismen ursächlich verknüpft sind. Weiterhin mußte natürlich die Frage interessieren, inwieweit eine Gewöhnung der Bakterien an verschiedene Kulturmedien möglich ist und welche Momente fördernd oder hemmend wirken. Schon diese wenigen hier ganz kurz gestreiften Fragen zeigen, wie umfangreich das Gebiet der Biologie der Karieserreger ist, und wie wenig wir von den Einzelheiten der Kariesbakteriologie wissen. Selbst dann, wenn wir experimentelle Erklärungen für diesen oder jenen Vorgang glauben gefunden zu haben, sind wir doch immer noch weit entfernt von der Wirklichkeit wegen unseres Unvermögens, die tatsächlichen Verhältnisse in der Mundhöhle oder in kariöser Zahnsubstanz nachzuahmen; kennen wir doch nicht einmal die Zusammensetzung des Speichels und seine fermentativen Kräfte bis in alle Einzelheiten genau. Endlich ist auch die Frage der Zugehörigkeit der Speicheldrüsen zu dem endokrinen System nicht einmal geklärt. Deswegen können die nachstehend beschriebenen Versuche nur einen winzigen Ausschnitt aus dem Fragenkomplex der Bakteriologie der Mundhöhle bedeuten.

Zur Prüfung des Säurebildungsvermögens wurden je 300 ccm Bouillon pH 7,0, die mit 2, 4, und 6 %igem Traubenzuckerzusatz versehen wurden, mit je einer Normalöse von 48stündiger Bouillon der eigenen sechs Kulturen

beimpft. Jeder der drei Serien wurde zur Kontrolle ein unbeimpfter Kolben beigegeben. Alle zwei Tage wurde nun die H-Ionenkonzentration der einzelnen bei 37 ° bebrüteten Kulturen mit Hilfe des Walpoleschen Komparators festgestellt. Zur Prüfung der Lebensfähigkeit der einzelnen Stämme wurde jeweils eine Normalöse Kulturflüssigkeit auf Sektoren von Normalagar gebracht. Die Ergebnisse sind aus Tabelle II, III und IV (S. 00, 00 und 00) ersichtlich. Die drei Versuchsreihen wurden nacheinander ausgeführt.

Tabelle II
a) 2%ige Traubenzucker-Bouillon pH 7,0.

Stamm	2	5	10	12	15	19
Nach 2 Tagen	5,4	5,4	5,4	5,1	5,1	5,1
„ 4 „	4,8	4,9	4,9	4,6	4,8	4,7
„ 12 „	4,3	4,4	4,4	4,4	4,0	4,2
„ 17 „	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
„ 21 „	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
„ 23 „	4,1	4,1	4,1	4,1	4,2	4,2
„ 28 „	4,2	4,2	4,1	4,1	4,2	4,2
„ 37 „	4,3	4,4	4,4	4,4	4,4	4,4
„ 45 „	4,3	4,4	4,4	4,4	4,4	4,4

Tabelle III.
4 % ige Traubenzucker-Bouillon pH 7,0.

Stamm	2	5	10	12	15	19
Nach 3 Tagen	4,5	4,5	4,5	4,5	4,4	4,5
„ 5 „	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
„ 10 „	4,2	4,1	4,2	4,2	4,2	4,2
„ 18 „	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
„ 21 „	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
„ 28 „	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
„ 38 „	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1
„ 44 „	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1

Tabelle IV.
6%ige Traubenzucker-Bouillon pH 7,0.

Stamm	2	5	10	12	15	19
Nach 3 Tagen	4,7	4,7	4,5	4,6	4,5	4,5
„ 5 „	4,4	4,4	4,2	4,3	4,2	4,2
„ 11 „	4,2	4,4	4,2	4,2	4,2	4,2
„ 17 „	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
„ 21 „	4,2	4,2	4,1	4,0	4,0	4,2
„ 28 „	4,3	4,2	4,2	4,2	4,0	4,2
„ 38 „	4,4	4,2	4,2	4,3	4,1	4,2
„ 44 „	4,4	4,2	4,2	4,3	4,2	4,2

Bei allen drei Serien war zunächst eine deutliche Wachstumshemmung nach etwa 14 Tagen bemerkbar, die auch in späteren Untersuchungen immer dann zu verzeichnen war, wenn die Säureproduktion pH 4,3 bis 4,2 erreichte. Bei zunehmender Säurebildung wurden dann zwei oder drei Oesen Kulturflüssigkeit erforderlich, um auf Agar noch Wachstum zu erzielen. Die Säurebildung ließ sich über pH 4,0 hinaus nicht steigern, vielmehr trat vor und nach Absterben der Kulturen langsame Alkalisierung ein, die meistens pH 4,2 bis 4,4 zum Stillstand kam. Nach sechswöchentlicher Beobachtung wurden diese Versuchsreihen abgebrochen. Zu Tabelle IV ist zu bemerken, daß pH 4,2 als äußerste Säureproduktion in 6 %iger Traubenzucker-Bouillon einem Zufall, vielleicht einer Fehlerquelle im Indikator zu danken ist. In späteren Untersuchungen zeigte sich, daß die beobachteten Stämme mit 6—8 %iger Traubenzucker-Bouillon sehr wohl pH 4,0 zu erreichen vermochten.

Zu Vergleichszwecken wurde auch die Säureproduktion des Bac. adidophilus Moro unter denselben Bedingungen geprüft. Es ergab sich, wie Tabelle V zeigt, eine Säuregrenze von pH 4,2 bei viel kürzerer Lebensdauer. Das Verhalten von Bac. acidophilus zeigt eine gewisse Uebereinstimmung mit den Ergebnissen von Rose, der Untersuchungen über das Säurebildungsvermögen von Kariesstreptokokken anstellte.

Tabelle V.

Stamm	Bac. acidophilus Moro in Bouillon mit Zusatz von		
	2% Traubenzucker	4% Traubenzucker	6% Traubenzucker
Nach 2 Tagen pH	5,3	4,4	4,4
„ 4 „ „	4,4	4,2	4,2
„ 7 „ „	4,2	4,2	4,2
„ 10 „ „	4,2	4,2	4,2 abgestorben
„ 11 „ „	4,2	4,2	4,2
„ 16 „ „	4,2	4,2	4,2
„ 26 „ „	4,2	4,2	4,2

In allen Fällen erwiesen sich die Kontrollen als steril, doch erfuhren sie eine Säurung von pH 7,0 auf pH 6,7. Die Säuretoleranz der einzelnen Stämme war nicht immer gleichbleibend. Da nicht alle Kulturen beim Erreichen des Säuremaximums von pH 4,0 (Tabelle II und IV) abstarben, kann man vermuten, daß einzelne Organismen noch größere Säurewerte vertragen, daß ihre eigene Säureproduktion aber die Alkalibildung beim Zerfall der überwiegenden Zahl der Bakterienleiber nicht mehr paralysieren kann, so daß eine langsame Alkalisierung der Kulturflüssigkeit eintritt. Nun könnte man meinen, daß die überlebenden Keime auf dem wieder alkalischer gewordenen Nährboden noch längere Zeit weiterleben. Da aber auch diese Stämme bald abstarben, suchten wir den Grund in Nahrungsmangel. Deshalb setzten wir eine neue Versuchsreihe an und beschickten die Kolben alle zwei Tage bei jeweiliger pH-Bestimmung unter sterilen Kautelen mit frischer, sterilisierter Bouillon ohne Traubenzuckerzusatz. Gleichzeitig wurde parallel hierzu eine zweite Serie geschaltet, bei welcher statt Bouillon jeweils 2 ccm Traubenzuckerlösung

unter Wahrung der Sterilität jedem Kolben dieser Parallelreihe zugegeben wurden. Es mußte sich dabei herausstellen

1. ob die nun fünf Monate alten Kulturen auch diesmal pH 4,0 erreichten,
2. ob die durch Zufuhr neuer Bouillon verbesserten Lebensbedingungen einen Einfluß auf die Säurebildung ausüben, evtl. eine Verschiebung der Säuregrenze bewirken,
3. ob durch den alle zwei Tage zugeführten Traubenzucker in der Parallelreihe irgendeine nennenswerte Verschiebung eintritt. Man könnte doch glauben, daß ein Mehrangebot an Kohlehydraten unter gleichzeitiger Verbesserung der Lebensbedingungen zu einer Erhöhung der Säureproduktion führt.

Man ersieht aus Tabelle VI (S. 00), daß außer einer leichten Beschleunigung der Säurebildung keine höheren Säurewerte durch Bouillonzufuhr zu erzielen sind. Auffallend ist aber, daß alle Kulturen noch mindestens fünf Tage nach Ueberschreitung von pH 4,0 am Leben sind. Stamm 5, 10 und 19 sind noch nach 46 Tagen auf Agar überimpfbar, doch vermögen die überlebenden Organismen keine Säuerung des rückläufig auf pH 4,3 alkalisierten Nährbodens hervorzurufen.

2 % ige Traubenzucker-Bouillon mit Acb. lactis
beimpft bei jeweiliger pH-Bestimmung 2 ccm. Bouillon resp. Traubenzucker ergänzt

Tabelle VI.

Nach Tagen	Bouillon ergänzt					
	Stamm					
	2	5	10	12	15	19
2	4,9	4,5	4,7	5,0	4,5	4,6
6	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1
9	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
18	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
23	4,1	4,1	4,2	4,2	4,1	4,2
25	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
30	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
37	4,2	4,2	4,3	4,2	4,2	4,2
39	4,2	4,2	4,3	4,2	4,2	4,2
46	4,2	4,3	4,3	4,2	4,2	4,3

Tabelle VII.

Traubenzucker ergänzt					
Stamm					
2	5	10	12	15	19
4,7	4,7	4,7	4,8	4,9	4,5
4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1
4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
4,0	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1
4,0	4,1	4,1	4,1	4,1	4,2
4,0	4,1	4,1	4,1	4,1	4,2
4,1	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
4,1	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2

Aus Tabelle VII (S. 00) ersehen wir, daß die Kulturen wie bei Tabelle VI schon nach neun Tagen pH 4,0 erreichen, ohne diesen Wert zu überschreiten. Auch nach weiteren neun Tagen ist keine Verschiebung meßbar, obgleich inzwischen durch die mehrfache Ergänzung die Traubenzuckerkonzentration auf 8 % gestiegen ist. Alle Kulturen sterben nach 23 bis 39 Tagen ab.

Da auch im Verlauf von Versuch VI und VII keine nennenswerte Beeinflussung des Säurebildungsvermögens weder durch Verbesserung des Nährbodens noch durch Erhöhung des Traubenzuckergehaltes zu erreichen war, interessierte uns die Frage, ob pH 4,0 als die absolute Säuregrenze

für Acb. lactis zu betrachten sei oder ob dieser Wert durch Gewöhnung bedingt wurde.

Zu diesem Zwecke führten wir folgende Untersuchung durch: Wie vor allen anderen Versuchen wurden auch diesmal die sechs Kulturen nochmals einer mikroskopischen Prüfung unterzogen und als Reinkulturen sichergestellt. Sodann wurden sechs Röhrchen zu 10 ccm 2 %iger Traubenzuckerlösung mit je einer Oese 48stündiger Kulturflüssigkeit der Stämme Nr. 2, 5, 10, 12, 15 und 19 beimpft. Nach 24stündiger Bebrütung bei 37 ° ergaben sich folgende Säurewerte:

Tabelle VIII.

	Stammnummer					
	2	5	10	12	15	19
pH	5,4	5,4	5,8	5,4	5,4	5,4

Nun stellten wir für jeden Stamm zwei neue Röhrchen zu 10 ccm 2 %iger Traubenzucker-Bouillon mit Milchsäure so ein, daß die pH dieser Röhrchen der von dem betreffenden Stamm jeweils gebildeten Säuremenge entsprach. So erhielten wir zwei Serien zu je sechs Röhrchen, deren pH dieselben Werte zeigten wie diejenigen in Tabelle VIII. Die erste Serie dieser frischen Bouillon wurde nun mit je einer Oese der sauren Bouillon gemäß Tab. VIII beimpft (diese Serie soll der Einfachheit halber im folgenden als saure Reihe bezeichnet werden). Die andere Serie wurde mit je einer Kolonie der auf Normalagar pH 7,6 gezüchteten Stämme Nr. 2, 5, 10, 12, 15 und 19 beimpft (diese Serie möge alkalische Reihe heißen).

Beide Serien wurden bei 37 ° 48 Stunden bebrütet und zeigten dann folgende Säurewerte:

Tabelle IX.

	Stammnummer					
	2	5	10	12	15	19
Saure Reihe pH	5,0	5,0	4,9	4,9	4,9	4,8
Alkal. Reihe pH	4,9	5,0	4,8	4,8	4,9	4,9

Genau wie bei Tabelle VIII stellten wir wieder zweimal sechs Röhrchen mit Bouillon auf die Werte der sauren Reihe ein und impften die einzelnen Stämme einmal von der sauren Reihe, Tab. IX, dann von Normalagar auf die beiden neuen Serien über. Nach 48stündigem Bebrüten ergab sich folgendes Bild:

Tabelle X.

	Stammnummer					
	2	5	10	12	15	19
Saure Reihe pH	4,9	4,8	4,9	4,9	4,9	4,8
Alkalische Reihe pH	4,9	4,8	4,9	4,9	4,9	4,8

Nach nochmaliger Wiederholung des oben angegebenen Verfahrens erhielten wir folgende Werte nach 48 Stunden:

Tabelle XI.

	Stammnummer					
	2	5	10	12	15	19
Saure Reihe pH	4,8	4,7	4,8	4,8	4,8	4,7
Alkalische Reihe pH	4,8	—	4,8	4,8	4,8	—

Nach weiteren 48 Stunden bei nochmaligem Einstellen und Umimpfen wie oben:

Tabelle XII.

	Stammnummer					
	2	5	10	12	15	19
Saure Reihe pH	4,7	4,5	4,7	4,7	4,7	4,6
Alkalische Reihe pH	—	—	—	—	—	—

Aus Tabelle XI und XII geht hervor, daß bei direktem Ueberimpfen von Normalagar auf Traubenzucker-Bouillon bei pH 4,8 gerade noch Wachstum vorhanden ist, während bei pH 4,7 unter de gleichen Bedingungen kein Wachstum mehr erzielt wird. pH 4,8 ist also als Wachstumsgrenze bei direkter Uebertragung der Stämme von Normalagar zu betrachten. Die Uebertragung der sauren Reihe auf neue Bouillon gleicher pH ließ sich bis pH 4,0 weiterführen. Die tabellarische Darstellung unterbleibt, da sie uns nichts Neues bieten würde.

Analog dem oben dargestellten Verfahren versuchten wir die Alkaligrenze festzulegen. Trotz mehrmaliger Wiederholung gelang es nicht, über pH 8,1 hinaus Wachstum zu erzielen. Die untersuchten Stämme ließen sich also zwischen pH 4,8 und pH 8,1 direkt beliebig weiter impfen. Selbstproduzierte Säure wurde von allen Stämmen bis pH 4,0 gut vertragen.

Zusammenfassung:

1. Aus Initialkaries ließen sich regelmäßig grampositive Stäbchen, meistens fast in Reinkultur, isolieren, die dem von Heim und Schlirf als Acb. lactis bezeichnetem Organismus entsprechen.
2. Abweichend von den Angaben von Heim und Schlirf konnte anärobes Wachstum nicht erzielt werden. Da Schlirf angibt, Acb. lactis wachse ärob besser als anärob, so steht die Beobachtung Amslers, daß seine als dem Acb. lactis identisch bezeichneten Stäbchen anärob ein besseres Wachstum zeigten als ärob, sowohl zu der Auffassung Schlirfs als auch zu den hier niedergelegten Beobachtungen in Widerspruch.
3. Nach häufiger Ueberzüchtung tritt im Laufe der Zeit eine deutliche Verkürzung der Stäbchen ein (Abb. V ist eine Aufnahme, die ganz am Anfang der Untersuchungen gemacht wurde. Daraus erklärt sich der Größenunterschied gegenüber den anderen Stämmen). Die bei manchen Autoren angetroffene Meinung, daß „Kariesstäbchen" sich in Kokken verwandeln, bestätigte sich nicht. Wohl aber können kurze Stäbchen aus alten Kulturen bei gelegentlich besonders hervortretender Körnchenfärbung einen kokkenähnlichen Eindruck erwecken.
4. Die von Bunting angegebene Verminderung der Gramfärbbarkeit alter Kulturen haben wir nicht beobachtet. Die untersuchten Stämme färbten sich nach 10 Monaten auch in alten Kulturen einwandfrei nach Gram.

5. Sämtliche Stämme bildeten in acht bis zehn Tagen bei 37 ° in Traubenzucker-Bouillon Rechtsmilchsäure. Der Höchstwert pH 4,0 wurde nie überschritten. Lebensdauer und Säureproduktion ließen sich durch Veränderung der Traubenzuckerkonzentration des Nährbodens nicht beeinflussen. In selbst gesäuerter Traubenzucker-Bouillon waren alle Stämme bei pH 4,0 kurze Zeit lebensfähig und

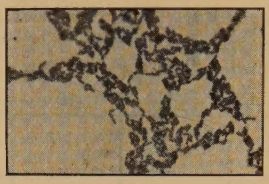

Fig. I

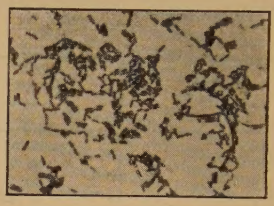

Fig. II

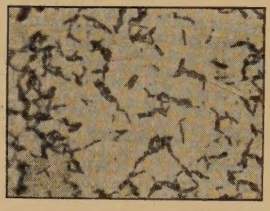

Fig. III

Fig. IV

Fig. V (jung)

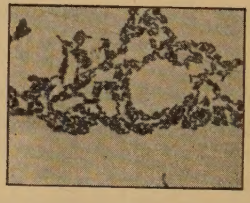

Fig. VI (alt)

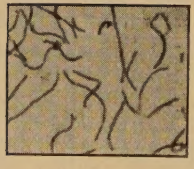

Fig. VII

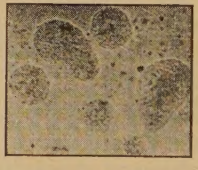

Fig. VIII

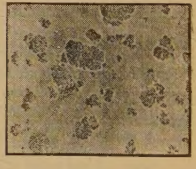

Fig. IX

Tafelabbildungen.

Fig. I—IV: Acb. lactis, 24stünd. Agarpräparat, Fuchsinfärbung (alte Kulturen 2, 5, 10, 12).
Fig. V: Acb. lactis (Nr. 15), 24stünd. Agarpräparat, junge Kultur.
Fig. VI: Acb. lactis, 24stünd. Agarpräparat, alte Kultur (Nr. 19).
Fig. VII: Bac. acidophilus Moro aus Brustmilchstuhl, mehrfach überzüchtet, 24stünd. Agarpräparat, Fuchsinfärbung.
Fig. VIII: Acb. lactis, Kolonien auf Agar.
Fig. IX: Acb. lactis, Kolonien auf Gelatine.

auf neue Nährboden, die mit Rechtsmilchsäure auf pH 4,0 eingestellt waren, überimpfbar. Die Uebertragung von Agar pH 7,6 auf saure Traubenzucker-Bouillon steigender Konzentration gelang nur bis pH 4,8. In derselben Weise wurde pH 8,1 als Alkaligrenze ermittelt.

6. Bei der Beurteilung der Säureproduktion der Kariesbakterien als ursächlichen Moment bei der Entkaltung harter Zahnsubstanzen verdient die Tatsache Beachtung, daß die puffernde Wirkung des Nährbodens eine Rolle spielt. Um in 2 %iger unbeimpfter Traubenzucker-Bouillon pH 4,0 zu erreichen, benötigt man 0,85 % einer 50 %igen Milchsäure. Dieselbe Säuremenge in destilliertem Wasser war mit dem von uns benutzten bis pH 2,8 reichenden Komperator nicht mehr meßbar.

Die Frage, ob die viel höheren Säurewerte, die ausländische Autoren bei Kariesstäbchen gemessen haben (pH 2,75 resp. 3,9), auf Unterschiede in der Meßmethode oder auf „Rasseunterschiede" zurückzuführen sind, bedarf noch der Klärung.

Herrn Privatdozenten Dr. Türkheim, Hamburg, und Herrn Prof. Dr. Henneberg, Kiel, sage ich für die freundlichen Anregungen zu der vorliegenden Arbeit meinen verbindlichsten Dank.

Literaturnachweis.

Amsler, Max: Beitrag zur Bakteriologie der Zahnkaries. Schweiz. Monatsschrift f. Zahnheilk. 1927, Bd. 37, Nr. 4, S. 203.
Baumgartner, Erich: Ueber das Wesen der Zahnkaries. Deutsche Monatsschrift f. Zahnheilk. 1911, Heft 5, S. 321.
Bunting, R. W., und Palmerlee, Faith: The Role of Bacillus Acidophilus in Dental Caries. The Journal of the Americ. Dent. Assoc. Vol. 12, Nr. 4, April 1925, S. 381.
Goadby, Kenneth W.: Microorganismus in Dental Caries. The Dental Cosmos. Vol. 42, 1900, S. 117—216, 311—324, zit. nach Bunting.
Hadley, Philipp: The Bacteriologie of Dental Caries. A Resumé. Dental Cosmos. 1924, Vol. 66, S. 707—725.
Hartzell, Thomas B., und Henrici, Arthur T.: Die Pathogenität der Mundstreptokokken und ihre Rolle in der Aetiologie der Zahnkaries. The Journal of the Nation. Dent. Assoc. 1917, Bd. 4, S. 477.
Heim, Ludwig: Bakterien und Zahnkaries. Sonderabdruck aus dem Sitzungsbericht d. phys.-med. Soz. in Erlangen. 1922/23, Bd. 54/55.
— Ueber die säurebildenden Bakterien bei tiefer Zahnkaries. Arch. f. Hyg. 1925, Bd. 95, S. 154.
— Was ist es mit der Einheit der Streptokokken? Zentr.-Bl. f. Bakteriologie. 1926, Bd. 100, S. 24.
Hilgers, W. E.: Ueber das Vorkommen des Bacillus lacticus bei Zahnkaries. Arch. f. Hyg. Bd. 94, 1924, S. 189.
Howe and Hatch: A Study of the Microorganisms of Dental Caries. Dental Cosmos. Bd. 59, S. 961.
Mc Intosh, James, James, W. W., und Lazarus-Barlow, P.: Etiology of Dental Caries. Brit. Dent. Journal. 43, 1922. Brit. Journal Exper. Path. 5, 175 (Juni 1924), zit. nach Bunting.
Kantorowicz, Alfred: Bakteriologische und histologische Studien über die Karies des Dentins. Deutsche Zahnheilk. 1911, Heft 21.
Kligler, I. J.: Journ. Allied Dent. Soc. Vol. 10, 1915, S. 141, 182 und 445, zit. nach Hadley.
Lehmann, K. B., und Neumann, R. O.: Atlas und Lehrbuch der Bakteriologie. 7. Aufl. München. 1926/27.
Michaelis, L.: Die Wasserstoffionenkonzentration.
Miller: Die Mikroorganismen der Mundhöhle.
Moro, E.: Ueber den Bacillus acidiphilus usw. Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 52, 1900, S. 38, zit. nach Schlirf.
Port-Euler: Lehrbuch d. Zahnheilkunde. 1920.

Rodriguez: Military Dent. Journ. Vol. 5, 1922, S. 199, zit. nach Hadley.
Rose, Heinz: Untersuchungen über das Säurebildungsvermögen der Kariesstreptokokken. Inaug.-Diss. Hamburg. 1925.
Seitz, Arthur: Beiträge zur Aetiologie der Zahnkaries. München. Med. Woch. 1921, S. 360.
Schlirf, Karl: Zur Kenntnis der azidophilen Bakterien. Zentr.-Bl. f. Bakt. Jan. 1926, Bd. 97, Heft 2/3, S. 104.
— Bakteriologische Untersuchungen über die Zahnkaries. Zentr.-Bl. f. Bakt. Juli 1926, Bd. 99, Heft 1/3, S. 104.
Sperling, Helmuth: Der Strept. lacticus (Kruse) in seiner Beziehung zur Zahnheilkunde. Dt. Monatsschr. f. Zahnheilk. H. 5, 1921, S. 1921.

Lebenslauf.

Am 22. August 1900 wurde ich als ältester Sohn des Bezirksschullehrers Richard Borgs in Dummersdorf bei Lübeck geboren. Ich besuchte zunächst die Volksschule, von 1909 bis 1912 die Realschule zum Dom und von 1912 bis 1918 das Johanneum in Lübeck, wo ich das Reifezeugnis erwarb.

Im Mai 1918 bezog ich die Universität Heidelberg, um Rechtswissenschaften zu studieren, doch schon im Juni desselben Jahres wurde ich zum Heere einberufen und rückte nach kurzer Ausbildung ins Feld. Nach Rückkehr in die Heimat war es mir aus wirtschaftlichen Gründen nicht möglich, mein Studium wieder aufzunehmen. Erst nach mehrjähriger kaufmännischer Tätigkeit standen mir die nötigen Mittel zur Verfügung, um 1926 in Hamburg das Studium der Zahnheilkunde beginnen zu können. Dezember 1929 bestand ich an der Hamburgischen Universität das zahnärztliche Staatsexamen.

Druck: Hans Pusch & Co., G. m. b. H., Berlin S 42, Oranienstr. 140-42.